

imWilms1 Células | 300412

Informações gerais

Description

A linha celular Wilms1 foi originalmente derivada de um tumor primário de Wilms, obtido de um doente a quem foram diagnosticados grandes tumores renais bilaterais, uma apresentação característica do tumor de Wilms (nefroblastoma). Esta linha celular tem uma mutação homozigótica sem sentido no gene WT1 (c.149 C>A, p.S50X), que leva à produção de uma proteína WT1 truncada e não funcional. O WT1 é um gene crítico no desenvolvimento dos rins e a sua mutação está intimamente associada à patogénese do tumor de Wilms, particularmente em tumores que exibem diferenciação estromal. As células Wilms1 apresentam um cariótipo estável, sem anomalias cromossômicas significativas, e caracterizam-se por um fenótipo mesenquimal, expressando vimentina, mas sem marcadores epiteliais como a citoqueratina. A linha mostra uma capacidade limitada, mas significativa, de diferenciação mesenquimal, incluindo o potencial para se diferenciar em células do tipo muscular em condições específicas, tornando-a um modelo crucial para o estudo das consequências moleculares das mutações WT1.

Para ultrapassar o tempo de vida limitado das células Wilms1 primárias, foi criada a linha celular imWilms1 através da introdução de um antigénio SV40 large T triplo mutante (U19dl89-97tsA58) nas células tumorais originais, facilitando a sua imortalização. Esta modificação permite que as células imWilms1 proliferem indefinidamente, mantendo a estabilidade cromossômica, oferecendo assim um modelo fiável para estudos a longo prazo. As células imWilms1 imortalizadas continuam a apresentar a mesma mutação WT1 e retêm as características mesenquimais da linha Wilms1 parental.

Para além das suas características genéticas e fenotípicas, a linha celular imWilms1 foi extensivamente analisada quanto à atividade da sua via de sinalização. Estudos proteómicos revelaram a fosforilação e ativação de várias tirosina-quinases de receptores (RTKs), incluindo EGFR, PDGFR β e AXL, com ativação a jusante das vias de sinalização MAPK. A ativação consistente dessas vias nas células imWilms1 ressalta sua relevância para a exploração de estratégias terapêuticas direcionadas no tumor de Wilms. De um modo geral, o imWilms1 constitui um modelo robusto e de longa duração para a investigação dos mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento e progressão do tumor de Wilms, em particular os que são provocados por mutações do WT1 e por vias de sinalização aberrantes.

Organism Humano

Tissue Rim

Disease Tumor de Wilms

Synonyms IM-WT-1

Caraterísticas

Age 10 meses

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

imWilms1 Células | 300412**Morphology** Em forma de fuso**Cell type** Células de Wilms**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** imWilms1 (número de catálogo Cytion 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**GMO Status** GMO-S1: Esta linha de tumor de Wilms humano imWilms1 contém uma cassete de antígeno T SV40 com mutação tripla que permite a imortalização condicional para investigação de nefroblastoma. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.**Dados biomoleculares****Mutational profile** Estado da mutação WT1: homocigótico c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, Estado da mutação CTNNB1: heterocigótico TCT>TTT, p.S45F**Manuseamento****Culture Medium** Kit MSCGM (da Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 1 a 2 vezes por semana

imWilms1 Células | 300412

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

imWilms1 Células | 300412

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:03:01, '01:03:02